

文章编号:1673-1689(2007)03-0020-04

二氢杨梅素的超声波辅助溶剂提取工艺

姚茂君^{1,2}, 黄继红²

(1. 吉首大学 食品科学研究所, 湖南 吉首 416000; 2. 湖南农业大学 食品科技学院, 湖南 长沙 410128)

摘要: 对显齿蛇葡萄中二氢杨梅素的超声辅助溶剂提取工艺进行了研究, 在单因素实验和正交实验的基础上, 得出超声波法辅助溶剂提取显齿蛇葡萄中二氢杨梅素的最佳工艺条件为: 在 40 ℃ 下, 以液料体积质量比为 15 mL : 1 g 的体积分数 65% 乙醇溶液, 超声波辅助溶剂提取 40 min, 目标物二氢杨梅素的一次提取率可达 93.1%, 优于常规的热提取法。

关键词: 显齿蛇葡萄; 二氢杨梅素; 超声波; 提取

中图分类号: TS 202.3

文献标识码: A

Solvent Extraction of Dihydromyricetin with Ultraonic Wave Assistent

YAO Mao-jun^{1,2}, HUANG Ji-hong¹

(1. Institute of Food Science, Jishou University, Jishou 4160001, China; 2. College of Food Science and Technology, Hunan Agriculture University Changsha 410128, China)

Abstract: In this manuscript, the solvent extraction of dihydromyricetin assisted by ultrasonic wave was studied. The optimum process parameters based on the single factor and orthogonal test as follows: the temperature 40 ℃, the ratio of solution to solid 15 : 1, the concentration of ethanol was 65% and the operating time of ultrasonic wave 40 min, the extraction rate could reach at 93.1%. The ultraonic-assistent extraction method was superior over the other traditional ethanol method.

Key words: *Ampelopsis grossedentata*; dihydromyricetin; ultraonic wave; extraction

显齿蛇葡萄(*Ampelopsis grossedentata*)又名藤茶、甘露茶、白茶等, 是葡萄科蛇葡萄属的一种野生木质藤本植物。主要分布于广东、云南、贵州、湖南、湖北、江西、福建等地^[1]。其味甘淡, 性凉, 具有清热解毒、祛风湿、强筋骨、消炎、镇痛等功效。民间曾将其幼嫩茎叶制成保健茶, 用于治疗感冒发热、咽喉肿痛、黄疸型肝炎等症^[2,3]。

二氢杨梅素(3,5,7,3',4',5'-六羟基-2,3-双氢黄酮醇, dihydromyricetin (DMY))又名双氢杨梅树皮素、双氢杨梅素、蛇葡萄素, 是显齿蛇葡萄中含量最高的黄酮类化合物, 在干燥显齿蛇葡萄茎叶中的质量分数可高达 30% 以上^[4]。二氢杨梅素属二氢黄酮类化合物, 具有多种药理活性, 如消炎、止咳、镇痛、抗高血压、消脂、保肝护肝、减轻乙醇中毒、抗肿

收稿日期: 2006-09-27.

基金项目: 国家级星火计划项目(2006EA770049); 湖南省自然科学基金项目(06JJ5019)。

作者简介: 姚茂君(1968-), 男, 湖南吉首人, 副教授, 工学硕士, 主要从事功能食品研究. Email: yaomaojunooo@163.com

瘤等^[5~7]。二氢杨梅素还可用于合成新的活性物质,如对糖尿病有一定疗效的二氢杨梅素葡萄糖苷等^[8]。

超声波是频率高于 20 kHz,并且不引起听觉的弹性波。超声波法在提取中草药化学成分方面的应用比较广泛,超声波产生的强烈振动、高的加速度、强烈的空化效应、搅拌等特殊作用,可以破坏植物的细胞壁,使溶剂渗透到细胞中,令其中的化学成分溶于溶剂中,从而提高提取效率,并且具有能耗低、效率高、不破坏有效成分的特点^[9,10]。目前,有关原二氢杨梅素的提取有一定的报道,但未见有关超声波法提取二氢杨梅素的研究报道。作者以二氢杨梅素的提取过程为对象,研究超声波条件下不同因素变化对二氢杨梅素提取率的影响。

1 实验材料与仪器

1.1 材料

显齿蛇葡萄干茎叶,二氢杨梅素对照品(纯度 $\geq 98\%$);湖南保靖县秦简茶科技有限公司提供;其它试剂均为 AR 级。

1.2 仪器

EB-340HW 型电子天平:日本 SHIMADZU 产品;AEG-220 型分析天平:日本 SHIMADZU 产品;8200-J4 型超声波清洗器(频率 47 kHz,功率 300 W,不可调):日本 YAMATO 公司产品;UV-160A 型紫外分光光度计:日本 SHIMADZU 公司产品。

2 实验方法

2.1 提取方法

称取一定质量的粉碎后的显齿蛇葡萄粉,加入一定体积分数的乙醇溶液,浸泡 10 min 后在一定温度下用超声波作用一定时间,抽滤,定容,测定吸光值。

2.2 分析方法

精密称取二氢杨梅素对照品 5.2 mg,用体积分数 95% 的乙醇溶解定容到 50 mL,分别吸取对照品溶液 0, 1.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25 mL 置于 10 mL 容量瓶中,精密加入质量分数 5% 的 AlCl_3 溶液 3 mL,用体积分数 95% 的乙醇溶液定容到 10 mL,摇匀后放置室温 40 min^[4]。在 200~500 nm 范围扫描,在 305 nm 处特征吸收峰达到最高值,选取 305 nm 为检测波长。测定对照品的吸光值,并以对照品溶液的质量浓度为横坐标,吸光值为纵坐标,回归方程 $A = 71.223X + 0.0022$, $R^2 = 0.9991$ ($n = 5$),制定出标准曲线,结果见图 1。

3 结果与讨论

3.1 时间的影响

称取干燥粉碎过的显齿蛇葡萄 3.00 g 5 份,分别加入体积分数 95% 的乙醇溶液 45 mL,浸泡 10 min 后分别在 40 °C 下超声提取 10、20、30、40、50 min,实验结果如图 2 所示。

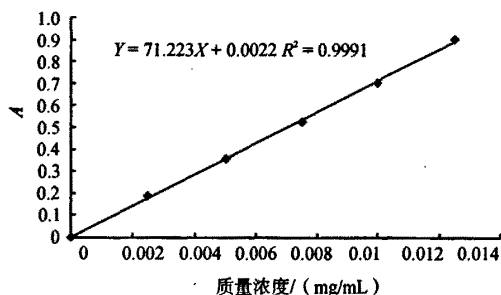


图 1 二氢杨梅素标准曲线图

Fig. 1 Standard Curve of dihydromyricetin

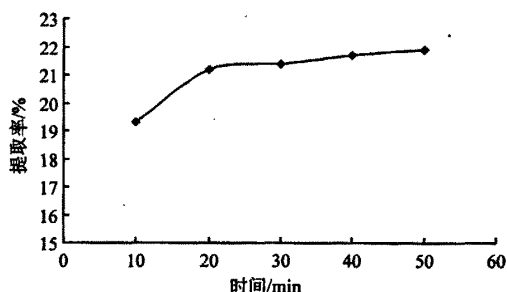


图 2 提取时间对二氢杨梅素提取率的影响

Fig. 2 Effect of extraction time on dihydromyricetin extraction rate

由图 2 可以看出,由于二氢杨梅素的热稳定性相对较好,在较低的温度下、相对较少的时间内,其结构不发生变化,所以,随着时间的增加,其提取效果不断增强,在很短的时间内(10 min)二氢杨梅素的提取率可以达到很高(19.3%),但在大于 20 min 的时间段后,随着提取时间的延长,二氢杨梅素的提取率增长变得不明显。

3.2 液料体积质量比的影响

称取干燥粉碎过的显齿蛇葡萄 3.00 g 5 份,分别按液料体积质量比 9 : 1, 12 : 1, 15 : 1, 18 : 1, 21 : 1 mL/g 加入体积分数 95% 的乙醇,浸泡 10 min 后分别在 40 °C 下超声提取 30 min,结果如图 3 所示。

一般的情况下,提取溶剂用量越大,提取效果越好,由图 3 可以看出,当溶剂达到一定程度时,增

加溶剂的用量,提取效果变化很小,无实际意义,而且还加大了后续工艺的工作量。

3.3 溶剂体积分数的影响

称取干燥粉碎过的显齿蛇葡萄 3.00 g 5 份,分别加入体积分数 35%、50%、65%、80%、95% 的乙醇 45 mL,浸泡 10 min 后分别在 40 ℃ 下超声提取 30 min,结果如图 4 所示。

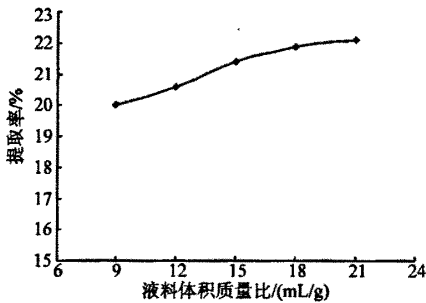


图 3 液料体积质量比对二氢杨梅素提取率的影响

Fig. 3 Effect of liquid-solid ratio on dihydromyricetin extraction rate

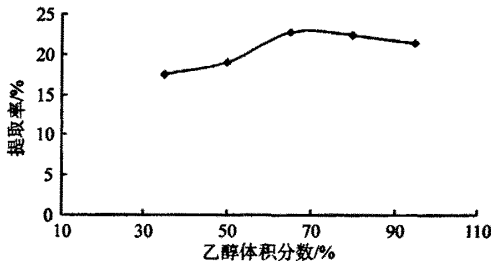


图 4 乙醇体积分数对提取率的影响

Fig. 4 Effect of ethanol concentration on dihydromyricetin extraction rate

二氢杨梅素为极性化合物,根据相似相溶的原理,当溶剂体系的极性与二氢杨梅素的极性相当时,二氢杨梅素的提取效果可达到最佳,(见图 4)。随着乙醇体积分数的提高,二氢杨梅素的提取率曲线上升,当乙醇的体积分数在 65% 时,这时候溶剂体系的极性与二氢杨梅素相当,二氢杨梅素的提取率达到最高值,随着乙醇体积分数的继续上升,二氢杨梅素的提取效果又呈现出曲线下降的情况。

3.4 最佳工艺条件的确定

在单因子实验的基础上,选取超声温度(℃)、超声时间(min)、液料体积质量比(mL/g)、溶剂体积分数(%)为考察因素,以二氢杨梅素的提取率为指标,采用正交表 $L_9(3^4)$ 进行正交实验,因素水平如表 1 所示,实验结果如表 2 所示。

正交实验结果表明,各因素对二氢杨梅素提取效果的影响大小顺序为:溶剂用量(D)>提取温度(A)>溶剂体积分数(C)>提取时间(B)。并由正交实验得出二氢杨梅素超声波最佳提取工艺条件为: $A_3B_3C_1D_3$ 。

表 1 正交实验因素和水平

Tab. 1 Factors and levels of orthogonal experiment

水平	因 素			
	温度	时间	溶剂体积	液料体积质量
	A/℃	B/min	分数 C/%	比 D/(mL/g)
1	30	20	65	12 : 1
2	40	30	80	15 : 1
3	50	40	95	18 : 1

表 2 正交实验结果

Tab. 2 Result of orthogonal experiment

实验号	因 素				提取率/%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	19.6
2	1	2	2	2	20.5
3	1	3	3	3	20.8
4	2	1	2	3	21.4
5	2	2	3	1	19.1
6	2	3	1	2	22.7
7	3	1	3	2	21.3
8	3	2	1	3	22.8
9	3	3	2	1	20.9
K_1	60.9	62.3	65.1	59.6	
K_2	63.2	62.4	62.8	64.5	
K_3	65	64.4	61.2	64	
k_1	20.3	20.8	21.7	19.9	
k_2	21.1	20.8	20.9	21.5	
k_3	21.7	21.5	20.4	21.7	
R	1.4	0.7	1.3	1.8	

4 结 论

综合单因素和正交实验结果,可以得出超声波从显齿蛇葡萄中提取二氢杨梅素的最佳条件为:在 40 ℃ 下,以液料体积质量比为 18 mL : 1 g 乙醇溶液体积分数为 65% 的,超声波提取 40 min。

用超声波从显齿蛇葡萄中提取二氢杨梅素时,

目标物二氢杨梅素的一次提取率可达93.1%,优于常规的热提取法(相同溶剂浓度和相同溶剂用量下75℃提取2h)的一次提取率91.9%;且用超声波

提取时还同时具有提取温度低,提取周期短等优点。

参考文献(References):

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴补编(第2册)[M]. 北京: 科学出版社, 1983. 349—356.
- [2] Yi Cheng. Research development of *Ampelopsis grossedentata*[J]. *Economic Forest Researches*, 2004, 22(3): 51—56.
- [3] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编(下册)[M]. 北京: 人民出版社, 1978.
- [4] 何桂霞, 裴刚, 周天达, 等. 显齿蛇葡萄中总黄酮和二氢杨梅素的含量测定[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(7): 423—425.
HE Gui-xia, PEI Gang, ZHOU Tian-da, et al. Determination of total flavonoids and dihydromyricetin in *Ampelopsis grossedentata* (Hand Mazz)[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2000, 25(7): 423—425. (in Chinese)
- [5] 张友胜, 宁正祥, 胡勇. 黄酮类化合物二氢杨梅素的研究利用现状[J]. 中成药, 2002, 24(12): 970—972.
ZHANG You-sheng, NING Zheng-xiang, HU Yong, et al. Research on flavonol of dihydromyricetin[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2002, 24(12): 970—972. (in Chinese)
- [6] Oshima Y, Ueno y.. oligostil benes from *Ampelopsis brevipedunculata* var-hanceiroots[J]. *Phytochemistry (oxford)*, 1993, 33(1): 179—182.
- [7] Yabe, Noritsugu, matsui, Hisao. Effects of *Ampelopsis brevipedunculata*(vitaceae) extract on hepatic M cell culture: Function in collagen biosynthesis[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 1997, 56(1): 31—44.
- [8] 宁正祥, 战宇, 高建华. 二氢杨梅素葡萄糖苷的合成及对糖尿病的疗效[J]. 食品与生物技术学报, 2005, 24(6): 92—93.
NING Zheng-xiang, ZHAN Yu, GAO Jian-hua. Synthesis of *Ampelopsis-7-O- α -D-Glucopyranoside* and its curative effect to diabetes[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2005, 24(6): 92—93. (in Chinese)
- [9] 项昭保, 霍丹群, 任绍光. 超声波在中草药化学成分提取中的应用[J]. 自然杂志, 2001, 23(5): 289—291.
XIANG Zhao-bao, HUO Dan-qun, REN Shao-guang. Application of ultrasonic wave in extracting chemical components from Chinese Herbs[J]. *Chinese Journal of Nature*, 2001, 23(5): 289—291. (in Chinese)
- [10] 贡永光, 丘泰球. 双频超声对海金沙中黄酮提取率影响的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(4): 51—54.
BI Yong-guang, QIU Tai-qiu. Effect of dual-frequency ultrasound technique on the extraction rate of flavonoids from *Lycopodium japonicum*[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2006, 25(4): 51—54. (in Chinese)

(责任编辑: 朱明)